

SUBTIPE HIV-1 DI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA DAN PERANNYA SEBAGAI PETUNJUK DINAMIKA EPIDEMI HIV

Tuti Parwati Merati*, Claire Ryan**#, Shannon Turnbull **, DN Wirawan*, Brad Otto**,
I Made Bakta*, Suzanne Crowe**#

*FK Universitas Udayana, Bali, ** The Burnet Institute, # Dep. of Medicine,
Monash University, Melbourne, Australia, **

ABSTRAK

Subtipe HIV-1 dapat ditentukan dengan melakukan analisis sekuens nukleotida dari gen selubung luar HIV-1, dengan mengekstrak DNA proviral dari sampel pasien, dan memakainya dalam PCR khusus untuk *envelope* HIV-1. Kemudian ini di sekuens dan dianalisis dengan memakai rujukan sekuens dari bank gen LANL (Los Alamos National Library) untuk menentukan subtipe. Distribusi geografi subtipe HIV-1 bersifat dinamis. Sampai sekarang terdapat 9 subtipe HIV dan 34 *circulating recombinant forms* (CRFs). Penelitian terdahulu mendapatkan ada dua subtipe HIV-1 yang beredar di Indonesia, Subtipe B dan CRF01_AE. Dengan mengetahui subtipe HIV-1 dapat membantu penelusuran arah epidemi dan memberikan informasi untuk merencanakan pencegahan HIV demikian juga memberikan informasi yang diperlukan dalam pembuatan vaksin. Oleh karena itu sangat penting dilakukan penelitian mengenai subtipe HIV di Indonesia.

Rancangan penelitian adalah *cross-sectional analytic* yang dilakukan di Klinik Pelayanan AIDS di Denpasar, Bali dan Panti Rehabilitasi Narkoba di Bogor, Jawa Barat. Responden adalah odha dewasa yang memenuhi kriteria inklusi (odha dewasa dan bersedia ikut dalam penelitian) dan responden dipilih secara *non probability sampling* sampai memenuhi jumlah sampel yang dibutuhkan. Dengan memakai rumus 16.4 Sastroasmoro S. and Ismael S. (2002), jumlah sampel minimal dihitung sebesar 65. Untuk hipotesis 1, melihat perbedaan Subtipe HIV-1 dengan cara transmisi virus, analisis data menggunakan uji statistik *Chi-Square*. Untuk hipotesis 2, membandingkan Subtipe HIV-1 dengan derajat penyakit, analisis data menggunakan uji statistik *Fisher's Exact test*, sedangkan untuk analisis data epidemiologi kasus dikerjakan secara deskriptif. Hasil disajikan dalam bentuk tabel, gambar pohon *phylogenetic* dan narasi.

Dari penelitian ini didapatkan empat jenis subtipe di Indonesia, yaitu Subtipe B, CRF01_AE, C dan G (A/G). Semua pengguna narkotika suntik (penasun) terinfeksi oleh Subtipe CRF01_AE, dan hubungan ini terbukti secara statistik bermakna (*Chi-square test with continuity correction value* 7,951 $p = 0,005$) (Tabel 5.3.1). Subtipe HIV-1 tidak berhubungan secara bermakna dengan derajat penyakit, akan tetapi terdapat kecenderungan CRF01_AE mempunyai lebih banyak kasus dengan derajat penyakit berat dibandingkan dengan NonCRF01_AE. Prevalensi kasus dengan *performance* yang terganggu pada CRF01_AE adalah 30,3% sedangkan pada Non CRF01_AE 14,3%. Perbedaan ini secara statistik tidak bermakna (*Fisher's-Exact test* $p = 0,3445$) (Tabel 5.11). Dari analisis *Phylogenetic* didapatkan bahwa transmisi HIV pada populasi risiko tinggi di Indonesia bersifat dinamis, dan epidemi yang terjadi tidak terpisah diantara populasi dengan faktor risiko yang berbeda.

Kesimpulan dari penelitian adalah: CRF01_AE merupakan subtype yang paling banyak didapatkan dan tersebar disebagian besar wilayah. CRF01_AE didapatkan pada populasi penasun, heteroseksual, penaja seks komersial dan pelanggannya. Karena prevalensi HIV pada penasun sangat tinggi, baik di Bali maupun daerah lainnya di Indonesia (50%), maka ada kemungkinan penasun merupakan episentrum epidemi HIV di Bali dan beberapa daerah di Indonesia, yang akan menyebar ke populasi umum melalui kelompok heteroseksual risiko tinggi yaitu PSK dan pelanggannya. Sedangkan Subtipe B, C dan G (AG) terdapat baik pada homoseks dan heteroseks, namun tidak ada penasun. Data tersebut didukung oleh gambaran pohon *phylogenetic* (Gambar 5.3). Pemakaian DBS dalam penelitian ini cukup praktis dan aman, walaupun keberhasilannya masih rendah (44,9%). Sekarang sudah ada kertas saring yang lebih baik dan sesuai untuk dipakai pada penelitian yang akan datang.

Saran dari penelitian ini adalah, dalam program *harm reduction* bagi penasun hendaknya juga menekankan pemakaian kondom secara konsisten dengan pasangan seksualnya. Disamping itu disarankan perlunya melakukan pemeriksaan subtype HIV secara periodik karena distribusi subtype HIV bersifat dinamis.

Pendahuluan

Human immunodeficiency virus (HIV) sebagai virus penyebab AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*) ada dua tipe yaitu HIV-1 dan HIV-2.¹⁻⁴ Secara *phylogenetic* HIV-1 terbagi atas grup, subtype, *circulating recombinant form* (CRF) dan sub-subtipe. Kelompok terbesar disebut grup M (*main, major*), kelompok lain disebut grup O (*outlier*) dan grup N (*New, non M non O*). Grup M tersebar luas dan merupakan penyebab tersering epidemi HIV diseluruh dunia^{5,6}. Grup O bersifat endemik di Cameroon dan negara sekitarnya di Afrika Barat dengan prevalensi sekitar 2-5 %, sedangkan grup N (*New, non M non O*) hanya didapatkan pada beberapa isolat dari Afrika. Subtipe dari grup M diberi nama abjad sesuai dengan urutan penemuannya dan sampai sekarang dikenal 9 subtype yaitu Subtipe A, B, C, D, F, G, H, J dan K. Antara satu subtype dengan subtype lainnya dapat membentuk rekombinan yang disebut CRF (*circulating recombinant form*) dan sampai saat ini telah ditemukan sebanyak 34 CRFs. Dari HIV-2, sampai saat ini dikenal Subtipe A dan B, tapi sedikit sekali dibahas dalam jurnal, karena epidemi HIV disebabkan sebagian besar oleh HIV-1^{7,8}.

Subtipe HIV-1 secara global mempunyai distribusi yang berbeda antara satu daerah dengan daerah lainnya, dan prevalensinya berubah dari waktu ke waktu. Hal tersebut terlihat dari laporan UNAIDS (*United Nation joint program on AIDS*) yang memperkirakan prevalensi subtype HIV-1 pada tahun 2000 adalah 45% Subtipe C, 25%

Subtipe A, 16% Subtipe B, 4% Subtipe D, 4% Subtipe E dan 3% subtipe lainnya. Pada tahun 2002 didapatkan perubahan dimana Subtipe A menjadi 35% dan Subtipe C menjadi 30%, sedangkan subtipe lainnya relatif tetap ^{9,10}. Sementara ini distribusi global Subtipe HIV-1 dipercaya lebih berhubungan dengan perubahan sosial ekonomi, imigrasi, dan perjalanan internasional dibandingkan dengan perbedaan sifat atau daya transmisi virus ¹¹. Di Afrika, Subtipe HIV-1 tidak jelas mengalami segregasi pada kelompok perilaku risiko tinggi tertentu, namun di Asia Tenggara, misalnya Thailand terlihat adanya segregasi yang jelas, paling tidak pada awal epidemi, dimana Subtipe B ditemukan pada IDU (*injecting drug users*) atau pengguna narkoba suntik (penasun) dan CRF01_AE ditemukan pada penularan secara heteroseksual ^{12,13}.

Pengaruh perbedaan subtipe HIV-1 ini secara signifikan belum dapat disimpulkan. Masih banyak kontroversial mengenai seberapa jauh implikasi perbedaan subtipe HIV-1 dalam pewabahan HIV sehingga terjadi distribusi global subtipe seperti tersebut di atas. Seberapa jauh peranan subtipe dalam cara transmisi dan progresifitas penyakit, juga masih merupakan perdebatan. Penelitian di Thailand menyatakan subtipe berhubungan dengan cara dan kecepatan transmisi, dimana Subtipe B berhubungan dengan transmisi homoseksual dan *intravenous drug user* (IDU), sedangkan Subtipe A, CRF01_AE dan C berhubungan dengan transmisi heteroseksual (14). Di samping itu penelitian terhadap 185 pasangan yang salah satunya terinfeksi Subtipe E atau B menunjukkan probabilitas penularan pada pasangannya lebih tinggi pada Subtipe CRF01_AE (69%) dibanding Subtipe B(48%) ¹⁴. Penelitian di Afrika ¹⁵ diketemukan ada kemungkinan subtipe HIV-1 yang berbeda menunjukkan progresifitas penyakit yang berbeda, namun penelitian di Eropa ¹⁶ dan Thailand ¹⁷ menyatakan tidak ada perbedaan progresifitas penyakit diantara subtipe yang berbeda, ataupun etnik yang berbeda. Bila memang perbedaan subtipe juga menunjukkan perbedaan sifat biologik dan imunologik yang bermakna, tentunya pembuatan vaksin yang efektif memerlukan strain yang *subtype-specific* atau *geographic specific*. Namun demikian hubungan antara sifat-sifat biologi virus dengan genetik berbagai subtipe HIV masih belum diketahui dengan jelas sehingga perlu diteliti lebih lanjut ^{18,19}.

Dari dua penelitian dengan sampel terbatas menunjukkan terdapat dua subtipe HIV-1 beredar di Indonesia, yaitu Subtipe B dan CRF01_AE ^{20,21}. Bagaimana jenis subtipe HIV-

1 di Bali belum pernah dilaporkan. Karena itu penting sekali melakukan penelitian untuk menentukan sub tipe HIV-1 di Bali, sehingga diperoleh data dasar pemetaan sub tipe HIV-1 yang dapat menjadi rujukan dalam perkembangan epidemi HIV dan pengembangan vaksin di masa mendatang, disamping manfaat dalam aplikasi kliniknya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan studi *Cross sectional analytic* untuk melihat hubungan antara sub tipe HIV-1 dengan cara transmisi HIV yang spesifik dan derajat penyakit. Populasi terjangkau adalah semua kasus infeksi HIV pada orang dewasa di klinik-klinik HIV di Bali dan Panti Rehabilitasi Narkoba di Jawa. Sampel adalah sampel yang dipilih secara *non probability sampling* dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi sebagai subjek penelitian dan menandatangani surat persetujuan. Perhitungan besar sample untuk rancangan *Cross-sectional* satu sampel memakai rumus 16.4 Sastroasmoro

S. dan Ismael S., 2002²²

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 PQ}{(P_1 - P_2)^2}$$

Besar sampel dihitung dengan asumsi sebagai berikut:

Untuk hipotesis 1, asumsi proporsi transmisi seksual pada Sub tipe Non CRF01_AE adalah $P_1 = 0,49$ (penelitian pendahuluan), asumsi Proporsi transmisi seksual pada Sub tipe CRF01_AE adalah P_2 sebesar 0,32 yang ditentukan dengan prevalens ratio (PR) sebesar 1,5. Berdasarkan asumsi diatas maka proporsi transmisi seksual secara keseluruhan, $P = 0,4$ dan proporsi transmisi yang tidak melalui seksual, $Q = 0,6$. Dengan demikian besar sampel minimal adalah 65, dengan menggunakan tingkat kemaknaan $\alpha = 5\%$ dan *power* penelitian 80%. Untuk hipotesis 2, dengan asumsi P_1 adalah kejadian kasus dengan aktivitas terganggu (WHO 3 dan 4) pada Sub tipe CRF01_AE adalah 0,45, P_2 adalah asumsi kejadian kasus dengan aktivitas terganggu pada Sub tipe Non CRF01_AE = 0,225, prevalens ratio (PR) yang dianggap bermakna adalah 2, $P = 0,34$, $Q = 0,66$, $Z_{\alpha} = 1,96$ dan $Z_{\beta} = 1,24$, maka jumlah sampel minimal yang diperlukan sebesar 45,4. Berdasarkan perhitungan sampel untuk hipotesis 1 dan hipotesis 2 tersebut, maka jumlah sampel penelitian ditetapkan sebanyak 75.

Analisis Data: Untuk hipotesis 1: analisisnya melihat perbedaan sub tipe HIV-1 dengan cara transmisi HIV dengan menggunakan uji statistik *Chi square*. Untuk hipotesis 2 :

analisisnya membandingkan sub tipe HIV-1 dengan derajat penyakit, dengan uji statistik *Fisher's Exact test*. Analisis sub tipe dan epidemiologi kasus, dikerjakan secara deskriptif.

HASIL PENELITIAN

Sebanyak 75 responden berhasil ditentukan subtipe nya, terdiri dari 64 (81,3 %) laki-laki, 60(80%) orientasi heteroseksual, kebanyakan bujangan (72%) dan pendidikannya sebagian besar sekolah menengah (70,7%). Karakteristik faktor risiko dan derajat penyakit dapat dilihat dalam tabel 5.1. Didapatkan empat jenis sub tipe HIV-1 yaitu, 68 CRF01_AE (90,7%), 5 Sub tipe B(6,7%) dan masing-masing satu (1,3%) Sub tipe C dan Sub tipe G (AG).

Hubungan Sub tipe HIV-1 dengan Penggunaan Narkoba Suntik

Terdapat perbedaan perilaku penggunaan narkoba suntik (penasun) antara responden Sub tipe CRF01_AE dan Non CRF01_AE. Kecenderungan menggunakan jarum suntik narkotik antara Sub tipe CRF01_AE dan Non CRF01_AE secara statistik berbeda bermakna(*Chi-square test with continuity correction* sebesar 7,951 $p = 0,005$ (Tabel 5.2).

Tabel 5.2
Perbedaan Kecenderungan Penggunaan Jarum Suntik antara Sub tipe CRF01_AE dan Non CRF01_AE

Sub tipe HIV-1	Tidak Penasun	Penasun	Jumlah (%)
NonCRF01_A/E	7 (100%)	0 (0%)	7 (100%)
CRF01_A/E	25 (36,8%)	43 (63,2%)	68 (100%)
Jumlah	32 (42,7%)	43 (57,3%)	75 (100%)

Chi-square test continuity correction 7,951 $p = 0,005$

Table 5.1
Distribusi Subtipe HIV-1
Menurut Karakteristik Faktor Risiko, Kategori CD4 dan Derajat Penyakit

Karakteristik	Subtipe HIV-1				Jumlah (%)
	B	AE	C	G(AG)	
Penasun					
Tidak	5	25	1	1	32(42,7)
Ya	0	43	0	0	43(57,3)
>1 pasangan seksual					
Tidak	0	31	1	1	33(44)
Ya	5	37	0	0	42(56)
Penasun dan seks					
Tidak	5	54	1	1	61(81,3)
Ya	0	14	0	0	14(18,7)
PSK	3	11	0	0	14(18,6)
Pelanggan PSK	0	4	0	0	4 (5,3)
Kategori CD4 (sel/ml): (n = 62)					
>700	0	2	0	0	2 (3,2)
500 - 700	0	14	0	0	14(22,5)
200 - 499	4	25	1	1	31(50,0)
< 200	0	17	0	0	17(27,4)
Derajat Penyakit (WHO) (n = 73)					
Derajat 1	0	32	1	0	33(45,2)
Derajat 2	4	14	0	1	19(26,0)
Derajat 3	1	11	0	0	12(16,4)
Derajat 4	0	9	0	0	9(12,3)

Hubungan Subtipe HIV-1 dengan Perilaku Seksual Berisiko Tinggi

Dilihat dari faktor risiko perilaku seksual, subtipe HIV-1 tidak berhubungan dengan perilaku seksual berisiko tinggi dalam hal ini perilaku mempunyai pasangan seksual lebih dari satu. Perbedaan perilaku seksual berisiko tinggi antara kelompok Subtipe CRF01_AE dan Non CRF01_AE secara statistik tidak bermakna, dimana nilai *Pearson Chi-Square test* 0,746 dan $p = 0,388$ (*ns*) (Tabel 5.3).

Table 5.3
Subtipe HIV-1 Ditinjau dari Perilaku Seksual Berisiko Tinggi

Subtipe HIV-1	Tidak	Ya	Jumlah (%)
NonCRF01_A/E	2 (28,6 %)	5 (71,4 %)	7 (100 %)
CRF01_A/E	31 (45,6 %)	37 (54,4 %)	68 (100 %)
Jumlah	33 (44,0 %)	42 (56,0 %)	75 (100 %)

Pearson Chi-Square test continuity correction 0,746 $p = 0,388$ (ns)

Orientasi Seksual pada Pengguna Narkotik Suntik (penasun)

Terdapat perbedaan orientasi seksual antara penasun dan bukan penasun. Penasun mempunyai orientasi seksual heteroseks sebanyak 97,7%, sebaliknya yang tidak penasun sebanyak 56,3%. Perbedaan ini secara statistik bermakna, dimana nilai *Chi-Square test Continuity Correction 17,173* dan $p = 0,000$ (Tabel 5.4).

Tabel 5.4
Distribusi Responden Berdasarkan Orientasi Seksual dan penasun

Penasun	Heteroseks	Homoseks	Jumlah
Tidak	18 (56,3%)	14 (43,8%)	32 (100%)
Ya	42 (97,7%)	1 (2,30%)	43 (100%)
Jumlah	60 (80,0%)	15 (20,0%)	75 (100%)

Chi-Square test Continuity Correction 17,173 $p = 0,000$

Subtipe HIV-1 Ditinjau dari Jumlah Faktor Risiko Lebih dari Satu

Terdapat 14 responden dengan dua jenis faktor risiko yaitu penasun dan seksual berisiko tinggi, dimana semuanya adalah Subtipe CRF01_AE. Sedangkan pada Subtipe Non CRF01_AE hanya mempunyai satu jenis faktor risiko. Namun, perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik, dimana nilai *Pearson Chi Square 1,772* dan $p = 0,183$.

Hubungan Subtipe HIV-1 dengan Derajat Penyakit

Subtipe HIV-1 tidak terbukti secara signifikan berhubungan dengan derajat penyakit, akan tetapi terdapat kecenderungan Subtipe CRF01_AE lebih banyak yang

derajat penyakitnya lebih berat dibandingkan Non CRF01_AE. Dari penelitian ini didapatkan bahwa, prevalensi kasus dengan aktivitas terganggu pada sub tipe CRF01_AE sebesar 30,3% sedangkan pada Non CRF01_AE sebesar 14,3%. Perbedaan tersebut secara statistik tidak bermakna, dimana nilai p Fisher's Exact 0,3445 (Tabel 5.5).

Tabel 5.5
Distribusi Subtipe HIV-1 Menurut Derajat Penyakit (WHO)

Subtipe HIV-1	Derajat Penyakit (WHO)		Jumlah
	Aktivitas Normal (WHO 1 dan 2)	Aktivitas Terganggu (WHO 3 dan 4)	
Non CRF01_AE	6(83,7%)	1(14,3%)	7(100%)
CRF01_AE	46(69,7%)	20(30,3%)	66(100%)
Jumlah	52(71,2%)	21(28,8%)	73(100%)

Fisher's Exact test $p=0,3445$ (ns)

PEMBAHASAN

Subtipe HIV-1 dari Beberapa Daerah Di Indonesia dan Hubungannya Dengan Geografi Lain

Dari penelitian ini ditemukan empat jenis subtipe HIV-1, yaitu Subtipe CRF01_AE (90,7%), Subtipe B (6,7%), Subtipe C dan Subtipe G (AG), masing-masing 1,3%. Subtipe CRF01_AE didapatkan paling banyak dan tersebar di beberapa pulau yaitu Pulau Bali, Jawa, Sumatera dan Kalimantan. Secara molekuler didapatkan adanya hubungan yang erat antara sekuens CRF01_AE dari beberapa daerah di Indonesia dengan sekuens dari Asia Tenggara, antara lain Thailand dan Cambodia. Berdasarkan hal tersebut, kemungkinan Subtipe CRF01_AE di Indonesia berasal dari Asia Tenggara, yaitu Thailand dan negara-negara disekitarnya. Hal ini mengingat banyak terjadi interaksi antara penduduk di kawasan Asia Tenggara dimana Indonesia juga termasuk didalamnya.

Subtipe B ditemukan di Bali, Jawa dan Irian Jaya. Seperti diketahui, Subtipe B umumnya terdapat di Eropa Barat, Amerika Utara, Amerika Latin, Jepang, Australia dan Selandia Baru. Secara molekuler, Subtipe B dari penelitian ini didapatkan lebih tersebar dari CRF01_AE, dan masuk dalam kluster sekuens dari Amerika (*reference sequence*

HXB2). Demikian pula dengan sekuens Subtipe B dari Indonesia pada penelitian sebelumnya oleh *Porter et al.*, 1997²⁰.

Subtipe C adalah subtipe yang paling sering didapatkan di Afrika selatan, India dan China dan menurut UNAIDS dinyatakan sebagai penyebab terbesar epidemi HIV secara global (45% di tahun 2000 dan 35% di tahun 2002); sedangkan Subtipe G (AG) terdapat di Afrika Barat dan Rusia. Pada penelitian ini Subtipe C ditemukan pada seorang wanita ibu rumah tangga di Jawa dan wanita ini tidak mempunyai faktor risiko. Demikian pula Subtipe G (AG) didapatkan pada seorang wanita ibu rumah tangga yang berasal dan bertempat tinggal di Pulau Lombok. Wanita tersebut juga tidak mempunyai faktor risiko. Terdapatnya Subtipe C dan G (AG) pada penelitian ini, membuktikan secara molekuler ada hubungan antara Afrika Selatan, Afrika Barat, India, China, atau Rusia dengan Indonesia. Karena itu, terdapat kemungkinan wanita tersebut mendapat penularan dari suaminya yang pernah mempunyai hubungan dengan orang-orang dari wilayah tersebut. Namun pada penelitian ini jumlahnya masing-masing hanya satu, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, untuk melihat perkembangan dari keberadaan subtipe C dan G (AG) di Indonesia.

Subtipe HIV-1 Ditinjau dari Perilaku Sebagai Faktor Risiko

Dalam penelitian ini CRF01_AE secara bermakna ditemukan lebih tinggi pada kelompok pengguna narkotik suntik (penasun). Pada semua penasun didapatkan Subtipe CRF01_AE. Disamping itu, CRF01_AE juga terdapat pada PSK, baik PSK perempuan maupun PSK laki-laki dan pada pelanggan PSK. Selain itu, juga ditemukan adanya kecenderungan yang kuat bahwa CRF01_AE terdapat pada heteroseksual (56/68 atau 82,4%) dibandingkan homoseksual (12/68 atau 17,6%). Jadi dapat disimpulkan bahwa CRF01_AE terdapat secara bermakna pada kelompok pengguna narkotika suntik dan kelompok heteroseksual. Subtipe CRF01_AE juga dijumpai pada individu yang mempunyai dua faktor risiko yaitu sebagai penasun dan perilaku seksual berisiko (20,6%). Hal inilah yang kemungkinan menjadi penyebab didapatkannya paling banyak CRF01_AE (90,7%) dalam penelitian ini, karena penularan dapat terjadi baik melalui pemakaian jarum suntik narkotik diantara kelompok penasun maupun melalui hubungan seksual dengan isteri atau pasangan seks penasun tersebut.

Sebaliknya, Subtipe B tidak ditemukan pada individu yang mempunyai faktor risiko penasun. Terdapat bukti adanya tumpang tindih antara populasi dengan faktor risiko penularan yang berbeda, dimana Subtipe B dan CRF01_AE sama-sama terdapat pada populasi homoseksual maupun heteroseksual. Namun Subtipe B terdapat lebih banyak pada laki-laki (80%), dan lebih banyak pada homoseksual (60%). Pada 14 PSK (laki dan perempuan) didapatkan baik CRF01_AE maupun Subtipe B. Dari temuan secara molekuler ini terlihat bahwa, ada hubungan penularan antara penasun, PSK dan pelanggan PSK. Hal ini sesuai dengan hasil survei perilaku yang dilakukan di Denpasar tahun 2005, dimana 44 % penasun mengatakan pernah berhubungan seks dengan PSK perempuan dalam satu tahun terakhir dan 67% dari mereka tidak memakai kondom ²³. Karena prevalensi HIV pada penasun di Bali dan berbagai daerah lain di Indonesia sangat tinggi yaitu sekitar 50% (24), maka tidak menutup kemungkinan terjadi ledakan epidemi HIV-1 dengan episentrum penasun, yang kemudian menyebar ke kelompok heteroseksual dan masyarakat umum.

Subtipe HIV-1 tidak berhubungan dengan derajat penyakit

Rancangan penelitian ini adalah rancangan *cross sectional*, sehingga yang dapat dilakukan adalah menganalisis hubungan antara subtipe HIV-1 dengan derajat penyakit pada satu kali pengamatan terhadap responden. Disamping itu dengan *non probability sampling* tidak semua populasi terjangkau memperoleh kesempatan yang sama. Dalam penelitian ini didapatkan subtipe HIV-1 tidak terbukti secara signifikan berhubungan dengan derajat penyakit, walaupun terdapat kecenderungan Subtipe CRF01_AE lebih banyak yang derajat penyakitnya lebih berat dibandingkan Non CRF01_AE. Seperti diketahui, penelitian longitudinal di Eropa oleh Alaeus *et al.*, 1999 ¹⁶ dan Amornkul *et al.* 1999 ¹⁷ di Thailand menyatakan tidak ada perbedaan progresifitas penyakit diantara subtipe HIV-1 yang berbeda. Namun oleh Kanki *et al.* 1999 ¹⁵ dalam penelitiannya secara *cross sectional* di Afrika, didapatkan Subtipe Non B sering didapatkan pada pasien dengan penyakit derajat berat (stadium AIDS).

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini tidak lepas dari keterbatasan antara lain kesulitan mengetahui faktor risiko secara akurat. Wawancara untuk mendapatkan data tentang faktor risiko penularan HIV menghadapi suatu kendala karena responden sering takut, malu atau tidak mau

secara terus-terang ²⁵⁻²⁷ menyampaikan perilaku yang merupakan faktor risiko, padahal informasi tersebut sangat penting sekali artinya dalam analisis data. Untuk mendapatkan data yang akurat tentang perilaku yang bersifat sangat pribadi, seperti perilaku seksual, jumlah pasangan seksual, kebiasaan menjadi klien PSK atau sebagai PSK mengalami kesulitan. Karena itu dalam penelitian ini analisis dibuat berdasarkan data yang diperoleh secara terbatas.

Simpulan Penelitian

Dari hasil - hasil penelitian dan pembahasannya, dapat diajukan simpulan dari penelitian ini sebagai berikut:

- a). Subtipe CRF01_AE adalah subtipe yang paling banyak dijumpai dalam penelitian ini dan tersebar di beberapa daerah di Indonesia.
- b). Subtipe CRF01_AE paling banyak dijumpai pada pengguna narkotika suntik dan populasi heteroseksual termasuk PSK perempuan maupun pelanggannya. Subtipe lainnya (B, C dan G) hanya dijumpai pada populasi homoseks dan heteroseks dan tidak dijumpai pada pengguna narkotika suntik.
- c). Ada kemungkinan bahwa pengguna narkotika suntik merupakan episentrum penularan HIV-1 di Bali dan beberapa daerah di Indonesia dan menyebar ke populasi umum melalui perilaku seksual risiko tinggi dari kelompok heteroseksual, yaitu PSK perempuan dan pelanggannya.
- d). Walaupun dalam jumlah kecil, pada penelitian ini didapatkan adanya introduksi virus HIV-1 dengan subtipe yang sebelumnya belum pernah dilaporkan dari penelitian terdahulu di Indonesia, yaitu Subtipe C dan Subtipe G (AG).

Saran-saran

Beberapa saran yang dapat diajukan dari penelitian ini, adalah sebagai berikut:

- a). Dalam program *harm reduction* bagi penasun, disamping menekankan pemakaian jarum suntik steril dan tidak meminjam jarum suntik dari penasun lain, agar ditekankan pula pemakaian kondom yang konsisten dengan pasangan seksualnya, termasuk dengan isteri maupun dengan PSK.
- b). Karena epidemi HIV sangat dinamis, disarankan penelitian subtipe HIV dilakukan secara periodik, sehingga dapat memberikan informasi dalam perencanaan program, baik edukasi untuk pencegahan, pengobatan maupun pembuatan vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, *et al.* Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 1984, 25:840-842.
2. Myers GL. HIV: Between past and future. *AIDS Res Hum retroviruses* 1994, 10:1317-1325
3. Sharp PM, Robertson DL, Gao F, Hahn B. Origins and diversity of Human Immunodeficiency Viruses. *AIDS* 1994, 4(suppl 1): S27-42
4. Barre-Sinoussi F. HIV as the cause of AIDS. *The Lancet*, 1996, 348:31-35.
5. WHO Network for HIV isolation and Characterization: HIV-1 variation in WHO-sponsored vaccine evaluation sites: Genetic screening, sequence analysis and preliminary biological characterization of selected viral strains. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994, 10:1325-1341
6. Korber BTM, Allen EE, Farmer AD, Myers GL. Heterogeneity of HIV-1 and HIV-2. *AIDS* 1995, 9(suppl A):S5-18
7. Peeters M. Review: Recombinant HIV sequences: their role in the global epidemic. Los Alamos, NM: HIV sequences Database, 2001
8. UNAIDS, 2004. Questions and Answers II, section I, July 2004.
9. Brown BJ and Zang L. Predictions of future HIV Infection by Subtype and Circulating Recombinant Form. *JAIDS* 2002, 29:184-190
10. Osmanov S, *et al.* Estimated Global Distribution and Regional Spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. *JAIDS* 2002, 29:184-190
11. Paraskevis D and Hatzakis A. Molecular Epidemiology of HIV-1 Infection. *AIDS Rev* 1999, 1: 238 -249
12. Mastro TD, Kuanusont C, Dondero TJ and Wasi C. Why do HIV-1 subtypes segregate among persons with different risk behaviours in South Africa and Thailand? *AIDS* 1997, 11:113-116
13. Tovanabutra S, Polonis V, DeSouza M, Trichavaroj R, Chanbancherd P, Kim B, Sanders-Buell E, Nithayaphan S, Brown A, Robbg MR, Birxg DL, McCutchan and Carr JK. First CRF01_AE/B recombinant of HIV-1 is found in Thailand. *AIDS* 2001, 15:1063-1065
14. Kuanusont C, *et al.* HIV-1 Subtypes and male to-female transmission in Thailand. *Lancet* 1995, 345:1078-1083
15. Kanki P, Hamel DJ, Saksale J, *et al.* HIV type 1 subtypes differ in disease progression, *J Infect Dis* 1999, 179: 68-73
16. Alaeus A, Lidman K, Bjorkman A, Giesecke J, and Albert J. Similar rate of disease Progression among individuals infected with HIV-1 genetic subtypes A-D. *AIDS* 1999;13(8):901-907.
17. Amornkul PN, Tansuphasawadikul S, Limpakajjanarat K, Likanonsakul S, Young N, *et al.* Clinical Disease associated with subtype B' and E infection among 2104 patients in Thailand. *AIDS* 1999; 13(14): 1963-1969.
18. Moore JP, McCutchan F, Poon SW, Mascola J, Liu J, Cao Y, Ho DD. Exploration of Antigenic variation in gp 120 from clades A through F of human

- immunodeficiency virus type 1 by using monoclonal antibodies. *J Virol* 1994, 68:8350-8364
19. Zolla-Pazner S, O'Leary J, Burda S, Gorny MK, Kim M, Mascola J, McCutchan F. Serotyping of primary human immunodeficiency virus type 1 isolates from diverse geographic locations by flow cytometry. *J Virol* 1995, 69: 3807-3815
 20. Porter KR, Mascola JR, Hupudio H, Ewing D, VanCott TC, Anthony RL, Corwin AL, Widodo S, Ertono S, McCutchan FE, Burke DS, Hayes CG, Wignall FS, Graham RR. Genetic, antigenic and serologic characterization of human immunodeficiency virus type 1 from Indonesia. *JAIDS* 1997, 14:1-6
 21. Foley B, Donegan E, Silitonga N, Wignall FS, Busch MP, Delwart EL. Importation of Multiple HIV Type 1 Strains into West Papua, Indonesia (Irian Jaya). *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001, 17:1655-1659
 22. Madiyono B; Moeslichan SMz; Sastroasmoro S; Budiman I; Purwanto SH. Perkiraan Besar Sampel. Dalam: *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*, ed 2. Eds: Sastroasmoro dan Ismael. Jakarta, CV Sagung Seto, 2002: 259-286
 23. Biro Pusat Statistik. *Survailan Perilaku* (2005)
 24. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jenderal PPM&PL. Laporan Triwulanan kasus HIV/AIDS kumulatif di Indonesia, September 2001
 25. Merati TP, Otto B, Wirawan IDN, Bakta IM, Oelrichs R, Crofts N and Crowe S. Epidemiology of HIV Infection in Bali: Preliminary analyses. 14th Annual Conference Australian Society for HIV Medicine, 23-26 October 2002, Sydney, Australia.
 26. Merati TP, Supriyadi and Yuliana F. The disjunction between policy and practice : HIV discrimination in health care and employment in Indonesia. *AIDS Care*, July 2005;17(4): 413-424. ISSN 0954-0121.
 27. Paxton S, Gonzales G, Uppakaew K, Abraham K, Okta S, Green C, Nair K, Merati TP, Thephthien B, Marin M and Quesada A. AIDS related discrimination in Asia. *AIDS Care*, May 2005;17(4): 413-424. ISSN 0954-0121.

HIV-1 SUBTYPE IN SEVERAL AREAS IN INDONESIA AND ITS ROLE AS AN INDICATOR OF THE DYNAMIC OF HIV EPIDEMIC

Tuti Parwati Merati*, Claire Ryan**#, Shannon Turnbull **, DN Wirawan*, Brad Otto**, I Made Bakta*, Suzanne Crowe**#

*Faculty of Medicine Udayana University, Bali, ** The Burnet Institute, # Department of Medicine, Monash University, Melbourne, Australia, **

ABSTRACT

HIV-1 subtype can be determined by analyzing the nucleotide sequence of the HIV-1 envelope gene, by extracting proviral DNA from the patient sample, and using it in a PCR specific for HIV-1 envelope. This is then sequenced and analyzed with reference sequences from the LANL gene bank (Los Alamos National Library) to assign a subtype. Geographic distribution of HIV-1 subtypes is dynamic. To date there are 9 HIV subtypes and 34 circulating recombinant forms (CRFs). Former studies indicate that two HIV-1 subtypes are circulating in Indonesia, Subtype B and CRF01_AE. Obtaining information on HIV-1 subtypes can help track the direction of the epidemic and provide information on designing HIV prevention as well as provide information needed for vaccine development. So, research on HIV-1 subtype is important in Indonesia.

Research design is a *cross-sectional analytic* study conducted in Bali and Java (Drug Rehabilitation Instructor, in west Java). The respondents are adults PLWHA meeting the inclusion criteria and chosen with non probability sampling until reached the needed sample size. Using formula 16.4 Sastroasmoro S. and Ismael S. (2002), minimal sample size calculated is 65. For hypothesis 1, association between HIV-1 subtypes with mode of transmission was analyzed using *Chi-Square test* and for hypothesis 2, association between HIV-1 subtypes and severity of disease, was analyzed using *Fisher's Exact test*. Epidemiological data was analyzed descriptively. Results of the study are shown in tables, *phylogenetic tree* and narratives.

This study found there are at least 4 subtypes in Indonesia – B, CRF01_AE, C and G (A/G). All injecting drug users (IDUs) were infected with Subtype CRF01_AE, and this association proved significant (*Chi-square test* with continuity correction value 7,951 $p = 0,005$) (Table 5.3.1). HIV-1 subtype is not significantly associated with severity of disease, but there is a trend that CRF01_AE have more cases with severe disease compared with Non CRF01_AE. Prevalence cases with disturbed activity in CRF01_AE was 30,3% while 14,3% in Non CRF01_AE. The difference is not statistically significant (*Fisher's- Exact test* $p = 0,3445$ (Table 5.11). *Phylogenetic* analysis showed that the HIV transmission among the risk populations in Indonesia is dynamic, and that there are not separate epidemics occurring among different risk populations.

Study conclusions are: CRF01_AE appears to be the predominant subtype in Indonesia, found in the IDU population, heterosexual population, sex workers and their clients. Because HIV prevalence is high among IDUs in Bali and other areas in Indonesia (50%), IDUs may have become the epicenter of the HIV epidemic in Bali and some other areas in Indonesia, with spread to general population through sex workers and their clients. Subtypes B, C, and G (AG) were found in homosexual and heterosexual populations but not in IDUs. Data are supported by the *phylogenetic tree* (Figure 5.3).

The use of dried blood spot technology is practical, although the success rate of amplification was low (44,9%). There are now more appropriate filter papers that could be utilized next time.

This study suggested that harm reduction program targeting IDUs, including consistent condom use for IDUs with their sexual partner should be emphasized. This study highlighted the importance of conducting a HIV subtype study periodically as HIV-1 subtype distribution in the region is dynamic.

Introduction

There are two types of *Human immunodeficiency virus* (HIV) as the caused of AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*) which are HIV-1 and HIV-2 ¹⁻⁴. In term of *phylogenetic* HIV-1 is divided into group, subtype, *circulating recombinant form* (CRF) and other subtypes. The biggest group is known as M group (*main, major*), others are known as O group O (*outlier*) and N group (*New, non M non O*). The M group is widely spread and it is the major cause of HIV epidemic ^{5,6}. The O group is endemic in Cameroon and several countries in West Africa with its prevalence around 2-5 %, while the N group (*New, non M non O*) is only found in a few isolates from Africa. The M group subtypes are named alphabetically base on its finding order. There are 9 subtypes of it which are Subtype A, B, C, D, F, G, H, J and K. One subtype and another subtype can form a recombinant which is called as CRF (*circulating recombinant form*). Until present, there has been found 34 CRFs. From HIV-2, there are Subtype A and B known up the present time, but they are rarely discussed in the journal because the HIV epidemic mostly caused by HIV -1. ^{7,8}

Globally subtype HIV-1 has different distribution between one and other areas, and its prevalence has changed from time to time. It can be seen in UNAIDS (*United Nation joint program on AIDS*) report that predicts the subtype HIV-1 prevalence in year of 2000 was 45% for C subtype, 25% A subtype, 16% B subtype, 4% D subtype, 4% E subtype and 3% for other subtypes. In 2002 there was a change of percentage which was A subtype became 35% and C subtype became 30%, while others remained relatively constant. ^{9,10} Meanwhile, the HIV-1 subtype global distribution has been believed more related to the changes of social economic, immigration, and international travel in comparison with the virus characteristic differences and transmission. ¹¹ In Africa, HIV-1 subtype does not have distinct segregation in the certain high risk group, but in South East Asia, such as Thailand it seems there is distinct segregation, at least at the beginning

of epidemic, while Subtype B was found in IDU (*injecting drug users*) or CRF01_AE was found in heterosexual transmission.^{12,13} A research to 185 couples which one of them is infected by Subtype E or B shows a higher infected partner probability in Subtype CRF01_AE (69%) compare to Subtype B (48%)¹⁴. A research in Africa¹⁵ found there is a possibility that different HIV-1 subtype shows different disease progressiveness, but a research in Europe¹⁶ and Thailand¹⁷ states that there is no difference in disease progressiveness between subtypes, or ethnics. If the subtype difference also shows a particular biology and immunology character difference, it means an effective vaccine production needs *subtype-specific* or *geographic specific* strain. It means a HIV subtype determination is important in the future. Whereas a further research is needed to find a correlation between virus biology characters with genetics of several HIV subtypes.^{18, 19}

From two researches with limited sample show that there are two HIV-1 subtypes circulating in Indonesia, which are Subtype B and CRF01_AE.^{20,21} In Bali, there has not been any report of the kind of HIV-1 subtype. Therefore, it is necessary to do a research to determine HIV-1 subtype in Bali, so data of the HIV-1 subtype base map can be gathered which can be used as a guidance in the HIV-1 epidemic progression and vaccine development in the future, besides its benefits in clinical application.

Research Method

This research is a *Cross-sectional analytic study* to see the relation between HIV-1 subtype with specific HIV transmission method and disease degree. Besides, it is to find subtype's role as an indicator in HIV epidemic dynamics. The reached population is all adult HIV/AIDS infected persons in HIV clinics in Bali and Drugs Rehabilitation Institution in Java. Samples are selected from reached population that fulfill the inclusion criteria as research subject (adult HIV/AIDS infected person older than 12 years old and consent to involve in the research) and sign a letter of agreement. Qualified respondents is selected in a *non probability sampling* until reaching the expected sample quantity.

Calculation of sample size for *Cross-sectional* one sample use formula of 16.4

Sastroasmoro S. and Ismael S., 2002²²

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 PQ}{(P_1 - P_2)^2}$$

Standard proportion P_1 (from literature), Proportion P_2 (*Clinical Judgment*), research Power or $Z\beta$ and meaning level or α . Sample size is calculated with assumption as follow:

For hypothesis 1, proportion assumption of sexual transmission in Subtype Non CRF01_AE is $P_1 = 0,49$ (previous research), proportion assumption of sexual transmission in Subtype CRF01_AE is P_2 of 0,32 which is determine with prevalence ration (PR) of 1,5. Base on above assumption, the total sexual transmission proportion, $P = 0,4$ and transmission proportion without sexual contact, $Q = 0,6$. Therefore, the minimal sample size is 65, using level of meaning $\alpha = 5\%$ and research *power* 80%. For hypothesis 2, with the assumption of P_1 is disturbed activity case (WHO 3 and 4) in Subtype CRF01_AE is 0,45, P_2 is assumption of disturbed activity case in Subtype Non CRF01_AE = 0,225, meaning prevalence ratio (PR) is 2, $P = 0,34$, $Q = 0,66$, $Z\alpha = 1,96$ and $Z\beta = 1,24$, thus the sum of minimum sample required is 45,4. Base on sample calculation of hypothesis 1 and 2, then the research sample number is stated in 75.

Data Analysis

For hypothesis 1: the analysis is to see the difference of subtype HIV-1 by HIV transmission using statistical test of *Chi square*. For hypothesis 2: the analysis is to compare subtype HIV-1 with disease degree using statistical test of *Fisher's Exact test*. For analyzing subtype and epidemiology case data, it is done descriptively.

Research Result

Seventy-five respondents can be determined for their subtype, consist of 64 (81,3%) male, 60 (80%) heterosexual, most are single (72%), and highest education mostly junior and senior high school (70,7%).Characteristic of risk factor and disease degree can be seen in table 5.1. Four subtypes of HIV-1 are found, which are 68 CRF01_AE (90,7%), 5 Subtype B(6,7%) and each on (1,3%) Subtype C and Subtype G (AG).

Subtype HIV-1 relation with Injecting Drug Usage

There is a different behaviour of injecting drug usage between respondents with Subtype CRF01_AE and Non CRF01_AE. All drug users are found to have Subtype CRF01_AE. The difference in tendency in usage of drugs needle between Subtype CRF01_AE and Non CRF01_AE statistically has a significant value, where the value of *Chi-square test with continuity correction* reaches 7,951 with $p = 0,005$ (Table 5.2).

Table 5.2
Needle Usage Tendency Difference between Subtype CRF01_AE and Non CRF01_AE

HIV-1 Subtype	Not IDU	IDU	Amount (%)
NonCRF01_A/E	7 (100%)	0 (0%)	7 (100%)
CRF01_A/E	25 (36,8%)	43 (63,2%)	68 (100%)
Amount	32 (42,7%)	43 (57,3%)	75 (100%)

Chi-square test continuity correction 7,951 $p = 0,005$

Table 5.1
Distribution of HIV-1 Subtype By Risk Factor, CD4 Category and Disease Degree

Risk Factor	HIV-1 Subtype				Amount (%)
	B	AE	C	G(AG)	
IDU					
No	5	25	1	1	32(42,7)
Yes	0	43	0	0	43(57,3)
>1 sexual partner					
No	0	31	1	1	33(44)
Yes	5	37	0	0	42(56)
IDU and Sex					
No	5	54	1	1	61(81,3)
Yes	0	14	0	0	14(18,7)
CSW	3	11	0	0	14(18,6)
Client of CSW	0	4	0	0	4 (5,3)
CD4 category (cell/ml): (n = 62)					
>700	0	2	0	0	2 (3,2)
500 - 700	0	14	0	0	14(22,5)
200 - 499	4	25	1	1	31(50,0)
< 200	0	17	0	0	17(27,4)
Disease Degree (WHO) (n = 73)					
1st Degree	0	32	1	0	33(45,2)
2 nd Degree	4	14	0	1	19(26,0)
3 rd Degree	1	11	0	0	12(16,4)
4 th Degree	0	9	0	0	9(12,3)

HIV-1 subtype relation with High Risk Sexual Behaviour

Looking from sexual behaviour risk factor, HIV-1 subtype is not related to high risk sexual behaviour with multiple partners. The difference in high risk sexual behaviour between Subtype CRF01_AE and Non CRF01_AE groups, statistically has no value, where the value of *Pearson Chi-Square test* 0,746 and $p = 0,388$ (ns) (Table 5.3).

Table 5.3
HIV-1 Subtype observed from High Risk Sexual Behaviour

HIV-1 Subtype	No	Yes	Amount (%)
NonCRF01_A/E	2 (28,6 %)	5 (71,4 %)	7 (100 %)
CRF01_A/E	31 (45,6 %)	37 (54,4 %)	68 (100 %)
Amount	33 (44,0 %)	42 (56,0 %)	75 (100 %)

Pearson Chi-Square test continuity correction 0,746 $p = 0,388$ (ns)

Sexual Orientation on Injecting Drug User

There is a different sexual orientation between IDUs and non IDUs. IDUs who have a heterosexual sexual orientation as much as 97,7%, on the other hand non IDUs was 56,3%. Respondents who were non IDUs have homosexual orientation as much as 43,8%, while IDUs 2,3%. This difference statistically has value, where the value of *Chi-Square test Continuity Correction* 17,173 and $p = 0,000$ (Tabel 5.4).

Table 5.4
Respondent Distribution Based on Sexual Orientation and IDU

IDU	Heterosexual	Homosexual	Amount
No	18 (56,3%)	14 (43,8%)	32 (100%)
Yes	42 (97,7%)	1 (2,30%)	43 (100%)
Amount	60 (80,0%)	15 (20,0%)	75 (100%)

Chi-Square test Continuity Correction 17,173 $p = 0,000$

HIV-1 Subtype Observed from Amount of Risk Factor above One

There were 14 respondents with two types of risk factor : IDU and high risk sexual, in which all are Subtype CRF01_AE. While on Subtype Non CRF01_AE only contained

one risk factor. However, those difference has no value statistically, where the value of *Pearson Chi Square* 1,772 and $p= 0,183$.

HIV-1 Subtype relation with Disease Degree

HIV-1 Subtype has not been significantly proven to be related to disease degree, however there is a tendency that Subtype CRF01_AE has more with higher disease degree than those of Non CRF01_AE. From this research it was also found that, the prevalence on cases with disturbed activity on subtype CRF01_AE was 30,3% while on Non CRF01_AE was 14,3%. This difference statistically has no significant value, where the value of p *Fisher's Exact* 0,3445 (Table 5.5).

Table 5.5
Subtype HIV-1 Distribution According to Disease Degree (WHO)

Subtype HIV-1	Disease Degree (WHO)		Amount
	Normal Activity (WHO 1 dan 2)	Disturbed Activity (WHO 3 dan 4)	
Non CRF01_AE	6(83,7%)	1(14,3%)	7(100%)
CRF01_AE	46(69,7%)	20(30,3%)	66(100%)
Amount	52(71,2%)	21(28,8%)	73(100%)

Fisher's Exact test $p=0,3445$ (ns)

Discussion

HIV-1 subtype from several Regions in Indonesia and its relations with other Geographical.

From this research it was found four kinds of subtype HIV-1, which were Subtype CRF01_AE (90,7%), Subtype B (6,7%), Subtype C and Subtype G (AG), at 1,3% each. Subtype CRF01_AE was found to be the most and spread over several islands namely Bali, Java, Sumatra (Celebes) and Kalimantan (Borneo). Molecularly was discovered a close relationship between CRF01_AE sequence from several regions in Indonesia with sequence from South East Asia, amongst which includes Thailand and Cambodia. Based on that, there was a possibility that Subtype CRF01_AE found in Indonesia has originated from South East Asia, Thailand and the surrounding countries. Taking into

account the numerous interactions between the population in the South East Asia region which Indonesia is included as one.

Subtype B was found in Bali, Java and Irian Jaya. As known, Subtype B was commonly found in Western Europe, North America, Latin America, Japan, Australia and New Zealand. Molecularly, Subtype B in this research was found to have more spread out than CRF01_AE, and falls into sequence cluster from America (*reference sequence* HXB2). Similar to Subtype B sequence from Indonesia in previous research by Porter *et al.*, 1997²⁰.

Subtype C is a commonly found subtype in South Africa, India and China and according to UNAIDS has been declared as the biggest cause of the epidemic of HIV globally (45% in 2000 and 35% in 2002); while Subtype G (AG) were found in West Africa and Russia. In this research, Subtype C was found on a housewife in Java and this woman has no risk factor. Similarly in Subtype G (AG) which was found on a housewife originated and domiciled on Lombok Island. This woman also has no risk factor. The existence of Subtype C and G (AG) in this research proves that molecularly there is a connection between South Africa, West Africa, India, China, or Russia with Indonesia. Therefore there is a possibility that these women were infected by their husbands who had contact with people from those regions. However because in this research the number of respondent was only 1 from each, therefore a further research needs to be conducted to monitor the development of the existence of the subtype C and G (AG) in Indonesia.

HIV-1 subtype Observed from Behaviour as a Risk Factor

In this research, CRF01_AE has evidently found higher on IDUs. On all IDUs were found Subtype CRF01_AE. Besides that, CRF01_AE were also found on CSW, female or male CSW alike, and on CSW's customer. Furthermore, was also discovered a strong tendency that CRF01_AE were found on heterosexual (56/68 or 82,4%) compared to homosexual (12/68 or 17,6%). Therefore we can conclude that CRF01_AE is existed significantly on IDUs and heterosexual groups. Subtype CRF01_AE were also found on individuals who have two risk factors which are IDUs and risk sexual behaviour (20,6%). This matter contributed to the probability of high number of CRF01_AE (90,7%) in this

research, due to the infection can occur both through the usage of drugs needle among IDUs as well as through sexual intercourse with spouse or sex partner of the IDUs.

On the other hand, Subtype B was not found on individuals who has IDUs risk factor. Evidence shows that there is an overlapping between different population and infection risk factor, where Subtype B and CRF01_AE are similarly found on homosexual as well as heterosexual population. However Subtype B were found to be more on male (80%), and more on homosexual (60%). On 14 CSW (male and female) were found both CRF01_AE and Subtype B. This molecular discovery shows that there is an infection connection between IDUs, CSW and CSW's customers. This is in accordance to the behaviour survey result conducted in Denpasar in 2005, where 44% IDUs stated to have had sexual intercourse with female CSW within the last 1 year and 67% of them did not use condom²³. Due to the high HIV prevalence among IDUs in Bali and other regions in Indonesia which is around 50%²⁴, therefore there is a possibility of an HIV-1 epidemic with IDUs as the epicentrum, which then spread to the heterosexual group and general population.

HIV-1 subtype is not related to disease degree

The design of this research is *a cross sectional*, therefore what could be done was observing and analyzing the connection between HIV-1 subtype with the degree of the disease in one observation on the respondents. Besides, with *non probability sampling* not all of the accessible population given the same opportunity. In this research was obtained that subtype HIV-1 is not significantly proven to have connection with the degree of the disease, even though there was an indication of tendency of Subtype CRF01_AE to have more with higher degree of the disease compared to Non CRF01_AE. As previously known, longitudinal research in Europe by Alaeus *et al.*, 1999¹⁶ and Amornkul *et al.*, 1999¹⁷ in Thailand stated that there are no difference between progress of disease amongst different HIV-1 subtype. However Kanki *et al.*, 1999¹⁵ in his *cross sectional* research in Africa, found that Non B Subtype was commonly found on patients with high degree disease (stadium AIDS).

Research Limitation

This research has its limitations and weaknesses, amongst which the difficulty in accurately determining risk factor. The interview conducted to gather data on HIV infection risk factor faced a difficulty. Respondents are often afraid, ashamed or unwilling to be honest about their behaviour²⁵⁻²⁷ which are risk factors, even though these information are crucial for this data analysis. To obtain accurate data about personal behaviour like sexual behaviour, number of sex partners, habit of frequenting CSW or as a CSW was a challenge. Therefore this analysis was based on limited data obtained.

Conclusion

From the result of the research and its discussion, some conclusions derived are as follow:

- a). CRF01_AE subtype is the highest found in this research and were distributed in several regions in Indonesia.
- b). CRF01_AE subtype is mostly found on IDUs and heterosexual population including female CSW and its clientele. Other Subtypes (B, C dan G) only found on homosexual and heterosexual population and not found on IDUs.
- c). There is a possibility that IDUs were the epicentrum of HIV-1 spread in Bali and several regions in Indonesia and spread to the general population through high risk sexual behaviour from the heterosexual group, which is the female CSW and its clientele.
- d). The description of *phylogenetic* tree in this research supported data on high risk behaviour on high risk HIV infected population, IDUs and high risk sexual behaviour as the multiple risk factor of the spread of HIV.
- e). Even though found in small number, in this research was discovered the introduction of HIV-1 virus which has not been reported in other researches conducted in Indonesia previously, the Subtype C and Subtype G (AG).

Suggestions

Some suggestions derived from this research are as follows:

- a). In *harm reduction* program for IDUs, besides emphasizing on usage of sterilized injection needle and not sharing needles with other IDUs, it should also be emphasized for the consistence usage of condom with their sexual partners, including spouse or CSW.

b). Due to the dynamic epidemic of HIV, it is suggested to conduct a periodic HIV subtype research, as to update the information for the program planning in education, prevention, medication as well as vaccine manufacturing.

References

1. Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, *et al.* Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 1984, 25:840-842.
2. Myers GL. HIV: Between past and future. *AIDS Res Hum retroviruses* 1994, 10:1317-1325
3. Sharp PM, Robertson DL, Gao F, Hahn B. Origins and diversity of Human Immunodeficiency Viruses. *AIDS* 1994, 4(suppl 1): S27-42
4. Barre-Sinoussi F. HIV as the cause of AIDS. *The Lancet*, 1996, 348:31-35.
5. WHO Network for HIV isolation and Characterization: HIV-1 variation in WHO-sponsored vaccine evaluation sites: Genetic screening, sequence analysis and preliminary biological characterization of selected viral strains. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994, 10:1325-1341
6. Korber BTM, Allen EE, Farmer AD, Myers GL. Heterogeneity of HIV-1 and HIV-2. *AIDS* 1995, 9(suppl A):S5-18
7. Peeters M. Review: Recombinant HIV sequences: their role in the global epidemic. Los Alamos, NM: HIV sequences Database, 2001
8. UNAIDS, 2004. Questions and Answers II, section I, July 2004.
9. Brown BJ and Zang L. Predictions of future HIV Infection by Subtype and Circulating Recombinant Form. *JAIDS* 2002, 29:184-190
10. Osmanov S, *et al.* Estimated Global Distribution and Regional Spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. *JAIDS* 2002, 29:184-190
11. Paraskevis D and Hatzakis A. Molecular Epidemiology of HIV-1 Infection. *AIDS Rev* 1999, 1: 238-249
12. Mastro TD, Kumanusont C, Dondero TJ and Wasi C. Why do HIV-1 subtypes segregate among persons with different risk behaviours in South Africa and Thailand? *AIDS* 1997, 11:113-116
13. Tovanabutra S, Polonis V, DeSouza M, Trichavaroj R, Chanbancherd P, Kim B, Sanders-Buell E, Nithayaphan S, Brown A, Robbg MR, Birxg DL, McCutchan and Carr JK. First CRF01_AE/B recombinant of HIV-1 is found in Thailand. *AIDS* 2001, 15:1063-1065
14. Kumanusont C, *et al.* HIV-1 Subtypes and male to-female transmission in Thailand. *Lancet* 1995, 345:1078-1083
15. Kanki P, Hamel DJ, Saksale J, *et al.* HIV type 1 subtypes differ in disease progression, *J Infect Dis* 1999, 179: 68-73
16. Alaeus A, Lidman K, Bjorkman A, Giesecke J, and Albert J. Similar rate of disease Progression among individuals infected with HIV-1 genetic subtypes A-D. *AIDS* 1999;13(8):901-907.
17. Amornkul PN, Tansuphasawadikul S, Limpakajjanarat K, Likanonsakul S, Young N, *et al.* Clinical Disease associated with subtype B' and E infection among 2104 patients in Thailand. *AIDS* 1999; 13(14): 1963-1969.
18. Moore JP, McCutchan F, Poon SW, Mascola J, Liu J, Cao Y, Ho DD. Exploration of Antigenic variation in gp 120 from clades A through F of human immunodeficiency virus type 1 by using monoclonal antibodies. *J Virol* 1994, 68:8350-8364
19. Zolla-Pazner S, O'Leary J, Burda S, Gorny MK, Kim M, Mascola J, McCutchan F. Serotyping of primary human immunodeficiency virus type 1 isolates from diverse geographic locations by flow cytometry. *J Virol* 1995, 69: 3807-3815
20. Porter KR, Mascola JR, Hupudio H, Ewing D, VanCott TC, Anthony RL, Corwin AL, Widodo S, Ertono S, McCutchan FE, Burke DS, Hayes CG, Wignall FS, Graham RR. Genetic, antigenic and serologic characterization of human immunodeficiency virus type 1 from Indonesia. *JAIDS* 1997, 14:1-6

21. Foley B, Donegan E, Silitonga N, Wignall FS, Busch MP, Delwart EL. Importation of Multiple HIV Type 1 Strains into West Papua, Indonesia (Irian Jaya). *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001;17:1655-1659
22. Madiyono B; Moeslichan SMz; Sastroasmoro S; Budiman I; Purwanto SH. Perkiraan Besar Sampel. Dalam: *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*, ed 2. Eds: Sastroasmoro dan Ismael. Jakarta, CV Sagung Seto, 2002: 259-286
23. Biro Pusat Statistik. *Survailan Perilaku* (2005)
24. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jenderal PPM&PL. Laporan Triwulanan kasus HIV/AIDS kumulatif di Indonesia, September 2001
25. Merati TP, Otto B, Wirawan IDN, Bakta IM, Oelrichs R, Crofts N and Crowe S. Epidemiology of HIV Infection in Bali: Preliminary analyses. 14th Annual Conference Australian Society for HIV Medicine, 23-26 October 2002, Sydney, Australia.
26. Merati TP, Supriyadi and Yuliana F. The disjunction between policy and practice : HIV discrimination in health care and employment in Indonesia. *AIDS Care*, July 2005;17(4): 413-424. ISSN 0954-0121.
27. Paxton S, Gonzales G, Uppakaew K, Abraham K, Okta S, Green C, Nair K, Merati TP, Thephthien B, Marin M and Quesada A. AIDS related discrimination in Asia. *AIDS Care*, May 2005;17(4): 413-424. ISSN 0954-0121.